

⑮ BUNDESREPUBLIK
DEUTSCHLAND



DEUTSCHES
PATENTAMT

⑫ **Offenlegungsschrift**
⑪ **DE 3544382 A1**

⑤ Int. Cl. 4-
C12M 1/04
C 12 N 1/00

⑳ Aktenzeichen: P 35 44 382.0
㉔ Anmeldetag: 14. 12. 85
㉕ Offenlegungstag: 19. 6. 87

Erfindung

DE 3544382 A1

㉑ Anmelder:

Sekoulov, Ivan, Prof. Dr.-Ing., 2000 Hamburg, DE;
Bräutigam, Hans-Jürgen, Dipl.-Chem., 2100
Hamburg, DE

㉒ Vertreter:

Schmidt-Bogatzky, J., Dipl.-Ing. Dr.-Ing., 2000
Hamburg; Wilhelms, R., Dipl.-Chem. Dr.rer.nat.;
Kilian, H., Dipl.-Phys. Dr.rer.nat., Pat.-Anw., 8000
München

㉓ Erfinder:

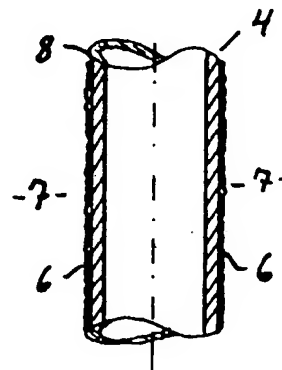
gleich Anmelder

㉔ Recherchenergebnisse nach § 43 Abs. 1 PatG:

DE-OS 34 30 924
DE-OS 31 22 186
US 39 25 165

㉕ Verfahren zur Sauerstoffversorgung von Bioreaktoren und Vorrichtung zur Durchführung des Verfahrens und die Anwendung der Vorrichtung

Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Sauerstoffversorgung von Bioreaktoren und eine Vorrichtung zur Durchführung des Verfahrens sowie dessen Anwendung. Der für die Durchführung des Bioprozesses erforderliche Sauerstoff wird insgesamt oder anteilmäßig blasenfrei durch eine porenfreie Kunststoffmembran mit einer Gewebeverstärkung in die Wasserphase eingetragen. Hierzu sind in dem Bioreaktor porenfreie Kunststoffmembranen 4 angeordnet, die mit einem Gewebe 6 verstärkt sind (Fig. 1).



DE 3544382 A1

Patentansprüche

1. Verfahren zur Sauerstoffversorgung von Bioreaktoren, dadurch gekennzeichnet, daß der für die Durchführung des Bioprozesses erforderliche Sauerstoff insgesamt oder anteilmäßig blasenfrei durch eine porenfreie Kunststoffmembran mit einer Gewebeverstärkung in die Wasserphase eingetragen wird.
2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß der Sauerstoff über eine im Reaktor feststehende oder bewegte Kunststoffmembran mit Gewebeverstärkung in die Wasserphase eingetragen wird.
3. Verfahren nach Anspruch 1 und 2, dadurch gekennzeichnet, daß zur Minimierung der Schaumbildung und Flotationseffekte der im Bioreaktor erforderliche Sauerstoff zum einen Teil durch eine ansich bekannte Blasenbelüftung und zum anderen Teil blasenfrei über eine oder mehrere porenfreie Kunststoffmembranen mit Gewebeverstärkung in die Wasserphase eingetragen wird.
4. Verfahren nach Anspruch 1 bis 3 dadurch gekennzeichnet, daß als Bioreaktor ein Rührkessel, Schlaufen-Fließbett- oder Wirbelschichtreaktor verwendet wird.
5. Verfahren nach Anspruch 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, daß die Sauerstoffzufuhr ausschließlich oder zusätzlich über porenfreie Kunststoffmembranen mit Gewebeverstärkung in einem Rezirkulationswasserstrom eines Rührkessels, Schlaufen-, Fließbett- oder Wirbelschichtreaktors erfolgt.
6. Anwendung des Verfahrens nach Anspruch 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, daß der Sauerstoffeintrag über porenfreie Kunststoffmembranen mit Gewebeverstärkung im Bioreaktor zur Züchtung empfindlicher Bakterienkulturen und Zellkulturen menschlicher, tierischer und pflanzlicher Herkunft erfolgt.
7. Vorrichtung zur Durchführung des Verfahrens nach Anspruch 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, daß in dem Bioreaktor (1, 2) porenfreie Kunststoffmembranen (3, 4, 5) angeordnet sind, die mit einem Gewebe (6) verstärkt sind.
8. Vorrichtung nach Anspruch 7, dadurch gekennzeichnet, daß das Gewebe (6) in die porenfreie Kunststoffmembran (3, 4, 5) eingebettet ist.
9. Vorrichtung nach Anspruch 7, dadurch gekennzeichnet, daß das Gewebe (6) auf der der Wasserphase (7) zugewandten Fläche (8) der porenfreien Kunststoffmembran (3, 4, 5) angeordnet ist.
10. Vorrichtung nach Anspruch 7, dadurch gekennzeichnet, daß das Gewebe (6) auf der der Wasserphase (7) abgewandten Fläche (9) der porenfreien Kunststoffmembran (3, 4, 5) angeordnet ist.
11. Vorrichtung nach Anspruch 7 bis 10, dadurch gekennzeichnet, daß das Gewebe (6) aus monofilen oder multifilen organischen Fasern besteht.
12. Vorrichtung nach Anspruch 7 bis 10, dadurch gekennzeichnet, daß das Gewebe (6) aus anorganischen monofilen oder multifilen Fasern besteht.
13. Vorrichtung nach Anspruch 7 bis 12, dadurch gekennzeichnet, daß die porenfreie Kunststoffmembran (3, 5) als Flachmembran ausgebildet ist.
14. Vorrichtung nach Anspruch 7 bis 12, dadurch gekennzeichnet, daß die porenfreie Kunststoffmembran (4) als Schlauchmembran ausgebildet ist.
15. Anwendung der Vorrichtung nach Anspruch 7

bis 14, dadurch gekennzeichnet, daß mittels der porenfreien Kunststoffmembran (3, 4, 5) mit Gewebeverstärkung in einem Bioreaktor (1, 2) der Sauerstoffeintrag und gleichzeitig/oder die Entfernung des durch die Bioprozesse entstandenen Kohlendoxids oder anderer leichtflüchtiger Stoffwechselprodukte erfolgt.

16. Anwendung der Vorrichtung nach Anspruch 7 bis 14, dadurch gekennzeichnet, daß die in der Wasserphase im Bioreaktor (1, 2) gelösten gegebenenfalls unerwünschte Substanzen über die porenfreie Kunststoffmembran (3, 4, 5) mit Gewebeverstärkung abgeführt werden.

Beschreibung

Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Sauerstoffversorgung von Bioreaktoren und eine Vorrichtung zur Durchführung des Verfahrens.

Bei Sauerstoff benötigenden biotechnologischen Verfahren führt die der O₂-Versorgung dienende Luftdispargierung in der Wasserphase des Bioreaktors häufig zu Problemen durch die aufsteigenden Gasblasen, wie z. B. übermäßige Schaumbildung und hieraus resultierende unerwünschte Flotationseffekte. Die Gasblasen und/oder die für die ausreichende Sauerstoffversorgung erforderlichen durch den Rührer oder die Gasblasen bedingten hohen Turbulenzen führen bei empfindlichen Zellen, die häufig menschlicher, tierischer oder pflanzlicher Herkunft sind, zu Zellschädigungen, Verringerung des Zellwachstums und Erhöhung der Zellsterberate. Die hierdurch bedingte Anreicherung von toxischen Zell-Zerfallprodukten beeinträchtigt die Zellvermehrung zusätzlich. Auch bei der Züchtung von Mikroorganismen wie z. B. Pilzen, Hefen, Bakterien sind derartige negative Effekte möglich.

Die Schaumbildung kann derzeit nur durch zusätzliche technisch aufwendige Maßnahme wie den Einbau von mechanischen Schaumbrechern und/oder den Einsatz von Antischaummitteln verhindert oder in tolerierbaren Grenzen gehalten werden. Die Bekämpfung der Schaumbildung und der zusätzlichen häufigen Flotation von Biomasse und organischen Substanzen der Nährlösung als weitere negative Begleiterscheinungen der Blasenbelüftung können die Produktionskosten von Zellkulturen und biotechnologischen Endprodukten sehr stark erhöhen.

Um die Schaumbildung und damit einhergehende Flotation von Zellen, Proteinen, Micro-Carriern und Zell-Zerfallprodukten zu vermeiden, ist es bereits vorgeschlagen worden, den erforderlichen Sauerstoff über offenporige hydrophobe Membranen in den Reaktor einzutragen, wobei die Membranen als Schlauchmembranen ausgebildet werden. Bei diesem Reaktor muß die Membran bewegt werden, was den fertigungstechnischen Aufwand erhöht und einen Einsatz bei größeren Bioreaktoren unwirtschaftlich macht. Darüberhinaus gestatten diese Schlauchmembranen aufgrund der geringen zulässigen O₂-Partialdrücke nur eine begrenzte Sauerstoffeintragsrate, da andernfalls an den Poren unerwünschte Gasblasen entstehen und aus den Poren austreten. Es ist auch schon vorgeschlagen worden, für die Züchtung von tierischen Zellen in Suspensions- und Monolayerkulturen in Fermentationsgefäßen die Zufuhr des Sauerstoffs über permeable Membranen durchzuführen, die aus einem gasdurchlässigen synthetischen Material wie Siliconummi bestehen, wobei die Membran als Schlauch ausgebildet sein kann. Diese

Schlauchmembranen sind außerordentlich empfindlich gegen mechanische Einwirkungen, so daß ihr Einbau in den Bioreaktor sehr sorgfältig erfolgen muß, damit Beschädigungen vermieden werden. Ein weiterer Nachteil besteht darin, daß nur geringe Sauerstoffeintragraten möglich sind, da andernfalls bei höheren O₂-Partialdrücken von z.B. 1,5 bar Überdruck die Schlauchmembran reißt.

Die Aufgabe der Erfindung besteht darin, ein Verfahren zur Sauerstoffversorgung von Bioreaktoren und eine Vorrichtung zur Durchführung des Verfahrens zu schaffen, die bei geringem mechanischem Aufwand eine hohe Sauerstoffeintragrate ermöglicht ohne daß als Folge der Blasenbildung eine Flotation in dem Bioreaktor auftritt.

Erfindungsgem. erfolgt die Lösung der Aufgabe dadurch, daß der für die Durchführung des Bioprozesses erforderliche Sauerstoff insgesamt oder anteilmäßig blasenfrei durch eine porenfreie Kunststoffmembran mit einer Gewebeverstärkung in die Wasserphase eingetragen wird. Die Kunststoffmembran kann als Schlauch- oder Flachmembran ausgebildet sein, wobei das Gewebe in die Kunststoffmembran eingebettet, auf der der Wasserseite zugewandten Fläche der porenfreien Kunststoffmembran oder aber auf der der Wasserseite abgewandten Fläche der porenfreien Kunststoffmembran angeordnet sein kann.

Weitere Merkmale der Erfindung werden in den abhängigen Ansprüchen beschrieben und nachstehend anhand der Zeichnungen näher erläutert. Es zeigt

Fig. 1 bis 3 Ausführungsformen von Schlauchmembranen in schematischen Seitenansichten im Schnitt,

Fig. 4 bis 6 Ausführungsformen von Flachmembranen in schematischen Seitenansichten im Schnitt,

Fig. 7a einen Bioreaktor mit Flachmembranen in der Seitenansicht im Schnitt,

Fig. 7b eine Doppelmembran des Bioreaktors nach Fig. 7 in einer vergrößerten Detailansicht,

Fig. 7c eine weitere Ausbildung eines Bioreaktors mit Flachmembranen in der Seitenansicht im Schnitt.

Fig. 8 einen Bioreaktor mit Schlauchmembran in der Seitenansicht im Schnitt,

Fig. 9a und 9b die Anordnung von Schlauchmembranen in einer schematischen Draufsicht,

Fig. 9c eine weitere Anordnung von Schlauchmembranen in einer schematischen Seitenansicht in einem vergrößerten Ausschnitt.

In Fig. 1 bis 3 sind als Schlauchmembranen ausgebildete Kunststoffmembranen 4 dargestellt, die z. B. aus einem ansich bekannten Siliconkunststoff oder mit Silicon beschichtetem Kunststoff bestehen können. Die Kunststoffmembranen 4 sind mit einem Gewebe 6 verstärkt. Das Gewebe 6 kann in die Kunststoffmembran 4 eingebettet, auf der der Wasserseite 7 zugewandten Fläche 8 oder aber auf der der Wasserfläche 7 abgewandten Fläche 9 angeordnet sein. Das Gewebe 6 kann aus monofilen oder multifilen organischen oder anorganischen Fasern bestehen. Organische Fasern können solche aus Polyester, Polyamid, Teflon od. dgl. sein, während als anorganische Fasern Glasfasern oder Metallfasern verwendet werden können. Von besonderem Vorteil sind Fasern wie z. B. aus Polyester, die die zur Sterilisation erforderlichen Temperaturen ohne negative Beeinträchtigung ihrer mechanischen Eigenschaften ertragen können.

In den Fig. 4 bis 6 sind schematisch ebenfalls porenfreie Kunststoffmembranen 3 dargestellt, die jeweils als Flachmembran ausgebildet sind. Diese Kunststoffmem-

branen weisen ebenfalls Verstärkungen mit einem Gewebe 6 auf, das wie oben beschrieben ausgebildet und angeordnet ist.

Der in Fig. 7a schematisch dargestellte Bioreaktor 1 besteht aus einem Reaktorgehäuse 10 mit einem bodenseitig angeordneten Rührer 11. In dem Reaktorgehäuse 10 ist ein Kunststoffmembranmodul 18 angeordnet, das aus Doppelmembranen 19 besteht. Jede Doppelmembran 19 ist aus zwei Flachmembranen 12, 13 gebildet, die mittels eines gasdurchlässigen Abstandhalters 14 auf Distanz gehalten werden (Fig. 7b). Durch den durch die Flachmembranen 12, 13 gebildeten Kanal 20 wird der Sauerstoff eingebracht und kann durch die Flachmembranen 12, 13 in die Wasserseite 7 diffundieren. Der Abstandhalter 14 kann z. B. als Wellband, Netz, Gewebe oder dergleichen ausgebildet sein.

Zwischen den Doppelmembranen 19 sind Abstandhalter 22 angeordnet. Diese verhindern, daß sich die Flachmembranen 12, 13 bei einer Beaufschlagung des Kanals 20 mit Gas durch den Gasdruck nach außen verformen. Diese Abstandhalter 22 können ebenfalls als Wellband, Netz, Gewebe oder dergleichen ausgebildet sein. Das Kunststoffmembranmodul 18 ist in seitlichen Wänden 23, 24 gehalten und in dem Reaktorgehäuse 10 auf einer netz- oder gitterartigen Auflage 31 abgestützt.

In Fig. 7c ist ein weiterer Bioreaktor 1a dargestellt, der sich von dem Bioreaktor 1 durch die Anordnung des Rührers unterscheidet. Der hier verwendete Rührer 25 ist horizontal gelagert und weist stabförmige Rührerlemente 26 auf, die zwischen den Außenseiten 27 der Flachmembranen 12, 13 der Doppelmembranen 19 angeordnet sind. Die Rührerlemente 26 sind radial auf der Welle 28 des Rührers 25 gelagert, die durch die eine seitliche Wand des Reaktorgehäuses 10 durchgeführt ist. Um einen schnellen Ein- und Ausbau des Kunststoffmembranmoduls 18 zu ermöglichen, können dessen seitliche Wand 23 sowie die Doppelmembran 19 nicht näher dargestellte vertikale schlitzförmige Ausnehmungen 29, 30 aufweisen, die in Fig. 7c durch Bezugszeichen angedeutet sind. Bei einer Rotation des Rührers 25 wird ein besonders hoher scherkraftarmer Sauerstoffeintrag aus den Doppelmembranen 19 erzielt.

Der in Fig. 8 dargestellte Bioreaktor 2 besteht ebenfalls aus einem Reaktorgehäuse 10 mit einem bodenseitig angeordneten Rührer 11. In dem Reaktorgehäuse 10 sind jedoch als Schlauchmembranen ausgebildete porenfreie Kunststoffmembranen 4 angeordnet. Die einzelnen Kunststoffmembranen 4 sind jeweils zu Schlauchringen 15 mit unterschiedlichem Durchmesser geformt und übereinander und ineinander im Abstand voneinander gestapelt. Zur Distanzhaltung und Lagerung dienen Stützen 16. Fig. 9a zeigt eine schematische Draufsicht dieses so ausgebildeten Kunststoffmembranmoduls 21. Es ist auch möglich, die schlauchförmigen Kunststoffmembranen 4 in einer horizontalen Ebene jeweils spiralförmig auszubilden wie es Fig. 9b zeigt. Hierbei können jedoch unter Umständen ungleichmäßige mechanische Belastungen und Lufteintragsraten auftreten. Fig. 9c zeigt eine Abwandlung des Kunststoffmembranmoduls 21, bei der die einzelnen Schlauchringe 15 direkt aufeinanderliegen. Diese Ausführungsform entspricht annähernd einem Kunststoffmembranmodul mit Flachmembranen, wobei die für den Lufteintrag wirksame Oberfläche durch die Wölbung der einzelnen Schlauchringe 15 vergrößert ist. Zwischen den Schlauchringen 15 (Fig. 9a) und in den spiralförmig angeordneten Schlauchringen 17 (Fig. 9b) sind ebenfalls

Abstandhalter 22 angeordnet.

Die je nach Typ des Bioreaktors und Anwendungsfall als Schlauch- oder Flachmembranmodule zur Anwendung kommenden Kunststoffmembranen zeichnen sich gegenüber bekannten unverstärkten Kunststoffmembranen durch erhebliche Vorteile aus. Durch die Gewebeverstärkung wird die Anwendung sehr hoher Sauerstoffpartialdrücke von über 10 bar in der Gasphase des jeweiligen Kunststoffmembranmoduls ermöglicht. Da die Sauerstoffmenge (g), die pro Zeiteinheit (Stunde h) und Flächeneinheit (m^2) eingetragen wird, proportional mit dem Sauerstoffpartialdruck in der Gasphase ansteigt, sind wesentlich höhere Sauerstoffeintragsraten als bisher bekannt möglich. Während nicht verstärkte Membransysteme z. B. auf der Basis dünnwandiger und entsprechend empfindlicher Siliconschläuche mit einer Wandstärke von 0,2 mm bis ca. 0,5 mm Sauerstoffeintragsraten von etwa 1 bis 2 $g\ O_2/m^2h$ ergeben, betragen die Sauerstoffeintragsraten bei demselben jedoch gewebeverstärkten Membranmaterial und bei ähnlichen Wanddicken je nach Durchmischung der Wasserphase 10 bis 30 $g\ O_2/m^2h$ und mehr.

Die Durchmischung der Wasserphase 7, die auch den Sauerstoffeintrag der Kunststoffmembranen mit Gewebeverstärkung beeinflusst, kann durch einen oder mehrere Rührer 11 und/oder durch eine externe Umwälzpumpe erfolgen, die in den Abbildungen nicht näher dargestellt ist. Eine zusätzliche Bewegung wie z.B. Rotation führt zu einer weiteren Verbesserung des Sauerstoffeintrags und damit der Reaktorsatzleistung. Die Rotation kann hierbei gleichbleibend oder als Hin- und Herbewegung und/oder Auf- und Abbewegung ausgebildet sein.

Die durch die Gewebeverstärkung erzielte Verbesserung der mechanischen Stabilität der Kunststoffmembranen 3, 4, 5 führt zusätzlich zu einer vollkommen problemlosen Handhabung der jeweiligen Membran. Die Gefahr einer mechanischen Beschädigung, die bei unverstärkten dünnwandigen Membranen stets gegeben ist und den Bau von Sauerstoffeintragsmodulen auf Membranbasis im technischen Maßstab erschwert, ist bei den gewebeverstärkten Kunststoffmembranen 3, 4, 5 weitgehend beseitigt.

Der blasenfreie und damit auch zwangsläufig schaumfreie Sauerstoffeintrag über nicht bewegte oder bewegte nicht poröse Kunststoffmembranen 3, 4, 5 mit einer Gewebeverstärkung ist prinzipiell für die Sauerstoffversorgung aller in der Biotechnologie eingesetzten Reaktortypen geeignet. Neben dem Einsatz in Rührkessel- und Schlaufenreaktoren ist die Verwendung gewebeverstärkter Kunststoffmembranen 3, 4, 5 als Membranmodul in jeweils auf den Anwendungsfall zugeschnittener Modulform wie Schlauchmodul, Flachmembranmodul, Wickelmodul mit Schläuchen bzw. Flachmembranen besonders auch für die Durchführung von biotechnologischen Umsetzungen im Flüssig- Fest- Wirbelschicht- und Fließbettreaktoren vorteilhaft.

Beim Flüssig- Fest- Wirbelschicht- bzw. Fließbettreaktor befinden sich die Mikroorganismen entweder als biologischer Belag auf einem feinkörnigen festen Träger wie z. B. Sand mit einem Durchmesser von z.B. 0,5 mm oder ohne zusätzlichen Träger nur aus Bakterienmasse bestehend, in Pelletform, in einem permanenten Schwebezustand, der durch den aufwärtsgerichteten Strom der Nährlösung erzeugt wird. Erfüllt das jeweilige Kunststoffmembranmodul, das in diesem Fall vorteilhaft als Schlauchmodul bzw. Schlauchwickelmodul ausgebildet ist, gleichmäßig die gesamte Wirbelschicht,

wird eine Schaumbildung verhindert und zusätzlich noch eine schonende und über die gesamte Wirbelschicht gleichmäßige den Umsatz der Mikroorganismen steigernde Sauerstoffversorgung ermöglicht. Auch beim Wirbelschicht- und Fließbettreaktor, bei denen der Sauerstoffeintrag der Kunststoffmembranen mit Gewebeverstärkung weitgehend durch die Membrandimensionen und den Sauerstoffpartialdruck bestimmt wird, bewirkt eine kontinuierliche Hin- und Herbewegung der Membranen bzw. des Membranmoduls in der horizontalen und/oder vertikalen Richtung eine Verbesserung des Sauerstoffeintrags.

- Leerseite -

3544382

Nummer:

35 44 382

Int. Cl. 4:

C 12 M 1/04

Anmeldetag:

14. Dezember 1985

Offenlegungstag:

19. Juni 1987

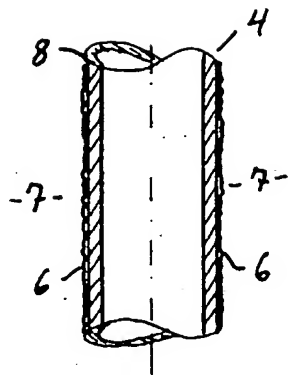


Fig. 1

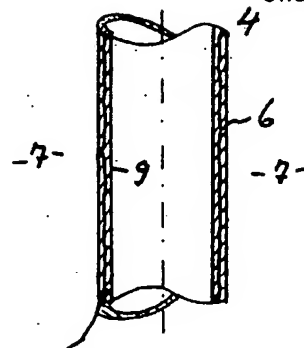


Fig. 2

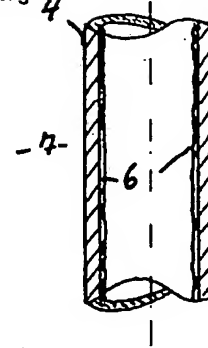


Fig. 3

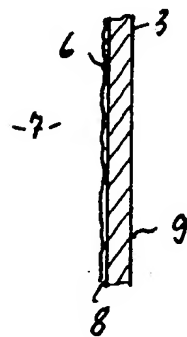


Fig. 4

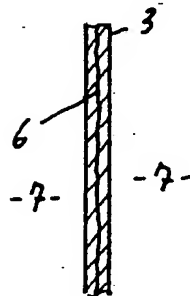


Fig. 5

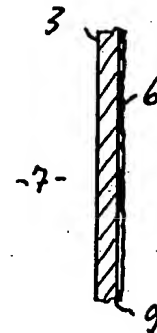


Fig. 6

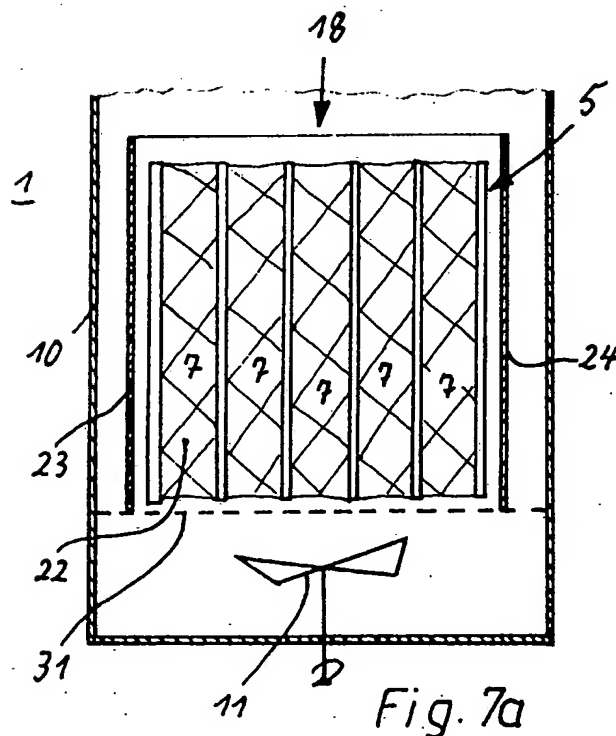


Fig. 7a

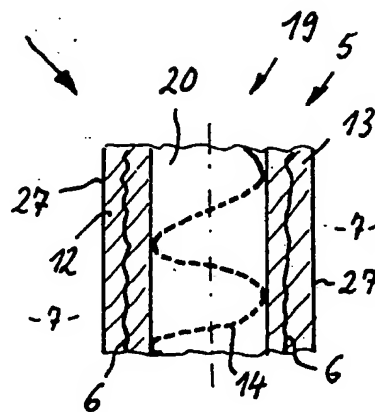


Fig. 7b

Fig. 8

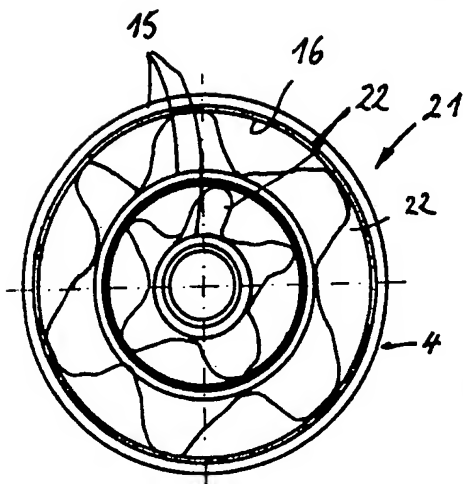
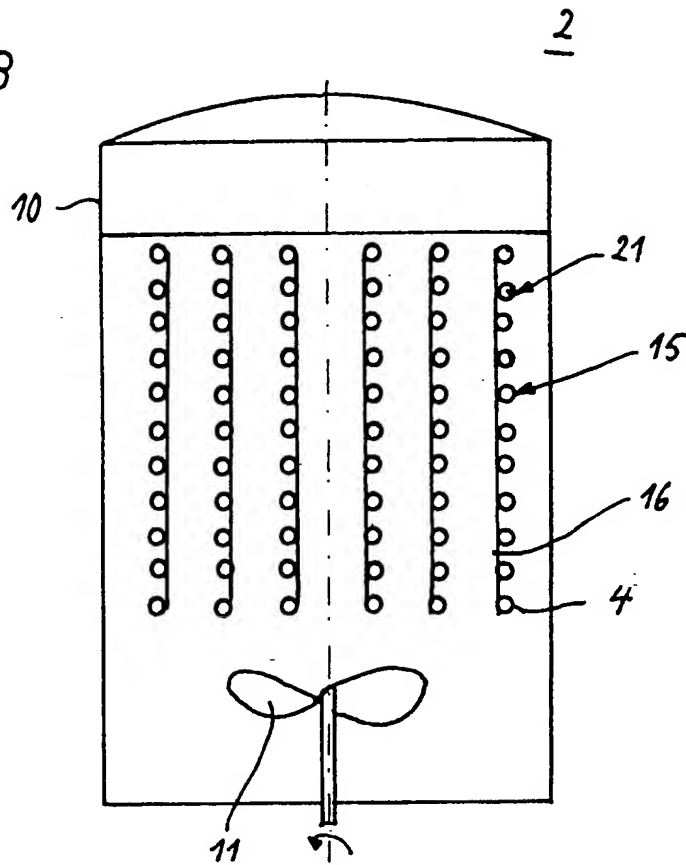


Fig. 9a

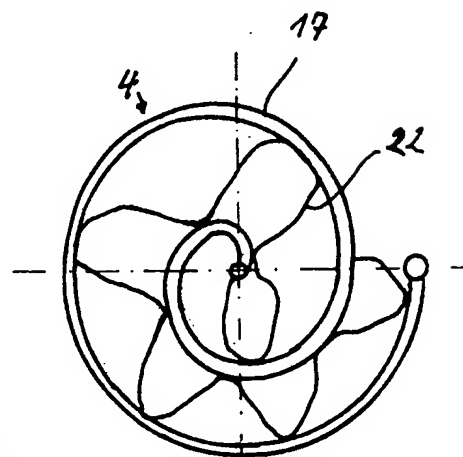


Fig. 9b

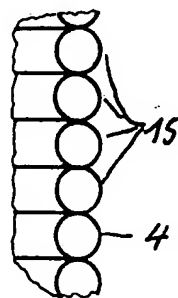


Fig. 9c

ORIGINAL INSPECTED